



Doctoral Thesis

Imaging techniques to study nickel-root interactions of the Ni hyperaccumulator plant *Berkheya coddii*

Author(s):

Moradi, A.B.

Publication Date:

2008

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005705176> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 17773

**Imaging techniques to study nickel-root interactions of the Ni
hyperaccumulator plant *Berkheya coddii***

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

for the degree of
DOCTOR OF SCIENCES

presented by

AHMAD MORADI
Master degree, Isfahan University of Technology (IUT)
born 21 March 1977
citizen of Iran

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Rainer Schulin, examiner
Prof. Dr. Walter Wenzel, co-examiner
Dr. Sascha Oswald, co-examiner
Dr. Eberhard Lehmann, co-examiner

2008

Summary

Although chemical, physical, and biological interactions of soil and roots have been investigated for a long time ago, the quantification of these interactions is still very difficult. Some of the reasons are the complexity of the root-soil interactions, the dynamic nature of roots and rhizosphere processes, and the technical difficulties of any measurements due to the small geometrical scale of the rhizosphere. An ideal tool for studying rhizosphere processes should be non-destructive, non-invasive and have a high spatial and temporal resolution. In this project we developed, adapted and tested some new imaging techniques for rhizosphere studies. In particular we applied (i) magnetic resonance imaging (MRI) to study the dynamics of nickel concentration distributions in a porous medium and rhizosphere, (ii) dimethylglyoxime (DMG) staining and laser ablation inductively coupled plasma mass spectroscopy (LA-ICP-MS) for qualitative and quantitative mapping of Ni distribution inside the root cross-sections, and (iii) neutron radiography (NR) combined with image analysis technique for studying growth and development of roots in soil. We used the Ni hyperaccumulator plant *Berkheya coddii* in all the experiments as a model plant.

To develop and adapt the MRI technique, we tested various porous materials and various MRI imaging sequences. Porous glass beads was found to be the best root-growth medium compatible with MRI. Then we developed a MRI method sensitive to the presence of Ni through the effect of Ni on the relaxation time of hydrogen. The method then was tested to obtain gradients of Ni concentration in a glass beads medium as Ni was sorbed into an exchange resin as a sink for Ni. A real-time map of Ni dynamics with relatively high spatial resolution was obtained.

The developed MRI sequence was used to investigate the temporal and spatial dynamics of Ni in the rhizosphere of *Berkheya coddii*. A high resolution distribution pattern of Ni was obtained. Nickel concentration was found to increase as approaching the root surface showing an exclusion pattern. The observed Ni concentration pattern was simulated using the numerical model, MIN3P. The gradient of Ni adjacent to the root surface was shown using numerical simulations to be a function of concentration, uptake rate, and transpiration.

Two independent methods, LA-ICP-MS and DMG-staining, were used to investigate the qualitative and quantitative distribution of Ni inside the root cross-sections of *Berkheya coddii*. Both methods showed a higher concentration of Ni in the cortex than the stele in the

Ni spiked roots, while the opposite trend was observed for the unspiked roots. This results indicate that an active uptake or ion selection mechanism exists for *Berkheya coddii* at low available Ni.

Finally, we combined neutron radiography with image analysis technique to provide a quantitative tool for root growth and development investigations. Suitability of various root-growth materials for neutron radiography was tested and neutron attenuation coefficient of various materials calculated. We improved the relationship between neutron attenuation coefficient and water content of the soil using neutron scattering correction algorithm. Neutron radiographs were compared with X-ray radiographs and scan images and the capability and limitations of each technique to detect the roots in soil were compared. Neutron radiography was found to detect roots with a thickness larger than 0.2 mm.

The results demonstrate that each technique has its own benefits and limitations in application. To apply each of these techniques in order to study root-soil interactions, compensation between real soil conditions and the requirements of each specific technique is necessary. However, they are valuable tools to address the specific questions in a well defined system. In case of *Berkheya coddii*, it was found to exclude Ni in high concentration of available Ni, although Ni may get depleted in soils with poor content of available Ni. It was shown that *Berkheya coddii* takes up Ni through an active uptake or ion selective mechanisms at low concentration of Ni in the rhizosphere.

Zusammenfassung

Obwohl die chemischen, physikalischen und biologischen Interaktionen zwischen Boden und Pflanzenwurzeln bereits seit einiger Zeit erforscht werden, ist die Quantifikation dieser Interaktionen weiterhin schwierig. Gründe dafür sind die Komplexität der Wurzel-Boden Interaktionen, die dynamische Natur der Wurzeln und Prozesse in der Rhizosphäre und technisch Schwierigkeiten bei Messungen aufgrund der geringen Grösse der Rhizosphäre. Deshalb sollte eine ideale Methode für Rhizosphären-Forschung weder destruktiv noch invasiv sein und eine hohe temporäre und räumliche Auflösung bieten. In diesem Projekt haben wir verschiedene neuartige bildgebende Verfahren für die Rhizosphären-Forschung getestet, angepasst und entwickelt. Diese sind im Einzelnen: (i) die Magnetresonanztomographie (MRI) um die Dynamik der Nickel(Ni)-Verteilung in porösen Medien und der Rhizosphäre zu untersuchen, (ii) die Dimethylglyoxime (DMG) Verfärbungs-Methode und Laser ablation inductively coupled plasma mass spectroscopy (LA-ICP-MS) für die quantitative und qualitative Kartierung von Ni in Wurzel-Querschnitten, und Neutronen Radiographie (NR) in Verbindung mit Bildverarbeitungsmethoden für die Untersuchung des Wurzelwachstums im Boden. *Berkheya coddii* Roessl, ein Ni-Hyperakkumulator wurde dabei in allen Experimenten als Modellpflanze benutzt.

Zur Entwicklung und Anpassung einer geeigneten MRI-Technik haben wir verschiedene poröse Materialien als Medien für Pflanzenwachstum in Kombination mit verschiedenen MRI Imaging Sequenzen getestet. Als das am besten mit MRI kompatibel Medium für Wurzelwachstum haben sich poröse Glaskugeln herausgestellt. Anschliessend wurde eine MRI-Methode entwickelt, die auf Ni sensitiv reagiert und auf der Änderung der Relaxationszeit von Wasserstoff unter Anwesenheit von Ni basiert. Diese Methode wurde dann getestet, indem die Veränderung eines Ni-Konzentrationsgradienten in einem Glaskugelmedium durch Sorption von Ni an einem Austauschharz gemessen wurde. Wir erhielten eine Abbildung der Ni-Verteilung in Echtzeit mit einer relativ hohen räumlichen Auflösung.

Die entwickelte MRI Sequenz wurde verwendet, um die temporäre und räumliche Dynamik von Ni in der Rhizosphäre von *Berkheya coddii* zu erforschen. Wir erhielten ein hochaufgelöstes Abbild der Ni-Verteilung. Die Erhöhung der Ni-Konzentration in der Nähe

der Wurzeloberfläche zeigte ein Ausschluss-Schema. Das beobachtete Schema der Ni-Konzentration wurde anschliessend mit dem Numerischen Modell MIN3P simuliert. Mit der numerischen Modellierung konnte gezeigt werden, dass der Ni-Konzentrationsgradient in der Nähe der Wurzeloberfläche von der Ni-Konzentration, der Aufnahmegeschwindigkeit von Ni und der Transpiration der Pflanze abhängig ist.

Zwei eigenständige Methoden, LA-ICP-MS und DMG-Verfärbung, wurden benutzt um die qualitative und quantitative Verteilung von Ni in Wurzel-Querschnitten von *Berkheya coddii* zu ermitteln. Beide Methoden zeigten bei ausgewachsenen Pflanzen in belastetem Boden eine höhere Konzentration von Ni im Cortex als in den Stielen an, während ein gegenseitiger Trend in unbelastetem Boden beobachtet wurde. Diese Ergebnisse legen nahe, dass es eine aktive Aufnahme oder eine Ionen-Selektion bei *Berkheya coddii* gibt wenn die Konzentration von verfügbarem Ni niedrig ist.

Um das Wurzelwachstum quantitativ bestimmen zu können benutzten wir Neutronenradiographie und digitale Bildverarbeitungsmethoden. Verschiedene Medien für die Aufzucht von Pflanzen wurden auf ihre Eignung für die Experimente mit Neutronenstrahlung untersucht und ihr Neutronendämpfungsfaktor gemessen. Unter Verwendung des neutron scattering correction algorithm (Neutronenstreuungskorrekturalgorithmus) verbesserten wir die Beziehung zwischen dem Neutronendämpfungsfaktor und dem Wassergehalt des Bodens.

Um die Möglichkeiten und Grenzen von Neutronenradiographien, Röntgen-Bildern und Bildern der eingescannten Bodenoberfläche im Bezug auf ihre Eignung Wurzeln im Boden zu detektieren, wurden die Bilder miteinander verglichen. Mit Neutronradiographie konnten Wurzeln von 0.2 mm und dicker identifiziert werden.

Die Resultate dieser Studie zeigen, dass jede der eingesetzten Methoden ihre Vor- und Nachteile hat. Eine von diesen Methoden im System Wurzel-Boden anzuwenden, stellt immer einen Kompromiss zwischen den realen Bedingungen im Boden und den Ansprüchen der jeweiligen Methode dar. Allerdings sind sie äusserst wertvoll, um spezifische Fragen in Bezug auf das System Wurzeln-Boden zu beantworten.